

ISSN 0120-4157

Biomédica

Revista del Instituto Nacional de Salud

PUBLICACIÓN ANTICIPADA EN LINEA

El Comité Editorial de *Biomédica* ya aprobó para publicación este manuscrito, teniendo en cuenta los conceptos de los pares académicos que lo evaluaron. Se publica anticipadamente en versión pdf en forma provisional con base en la última versión electrónica del manuscrito pero sin que aún haya sido diagramado ni se le haya hecho la corrección de estilo.

Siéntase libre de descargar, usar, distribuir y citar esta versión preliminar tal y como lo indicamos pero, por favor, recuerde que la versión impresa final y en formato pdf pueden ser diferentes.

Citación provisional:

Páez M, Jiménez M, Corredor A. Enfermedad hemolítica del feto y del recién nacido por aloanticuerpos contra el antígeno M. *Biomédica*. 2021;41 (4).

Recibido: 22-01-20

Aceptado: 09-08-21

Publicación en línea: 18-08-21

Enfermedad hemolítica del feto y del recién nacido por aloanticuerpos contra el antígeno M

Hemólisis perinatal: anti-M

Haemolytic disease of the foetus and new-born due to antibodies against the M-antigen.

Marco Páez ¹, María Jiménez ², Ana Corredor ³

¹ Departamento de Patología y Laboratorio Clínico, Fundación Santa Fe de Bogotá, Bogotá, D.C., Colombia

² Servicio transfusional, Fundación Santa de Bogotá, Bogotá, D.C., Colombia

³ Inmunohematología, Fundación Santa Fe de Bogotá, Bogotá, D.C., Colombia

Correspondencia:

Marco Antonio Páez Cancelado, Fundación Santa Fe de Bogotá, Carrera 9 #119a-4, Bogotá DC, Colombia.

Teléfono: 57 1 6030303, ext. 5652

marco.paez@fsfb.org.co

Contribución de los autores:

Marco Antonio Páez: planteamiento, análisis de los datos y seguimiento de aspectos éticos.

María Camila Jiménez: búsqueda de la literatura y gráficas.

Ana Corredor: historia clínica del paciente.

Todos los autores participaron en la escritura del manuscrito.

Existen pocos reportes de enfermedad hemolítica del feto y del recién nacido (EHFRN) causada por aloanticuerpos contra el sistema MNS, especialmente porque los anticuerpos generados hacia estos antígenos son de naturaleza IgM, con reactividad a temperaturas inferiores a 37°C; por tanto, no son de importancia clínica. A pesar de esto, en la literatura han sido reportados casos con presencia de anticuerpos Anti-M tipo IgG causantes de enfermedad hemolítica del recién nacido e incluso casos de muerte intrauterina ante la incompatibilidad MNS materno-fetal. El cuadro hemolítico ocasionado se asemeja al causado por Anticuerpos-anti-Kell desarrollando cuadros de anemia progresiva por supresión hematopoyética al inducir destrucción de precursores hematopoyéticos en médula ósea con ausencia de reticulocitos en periferia. Se reporta el caso de una materna con 38.5 semanas de gestación, quien presentó discrepancia en Hemoclasificación directa e inversa. El recién nacido arrojó como resultado un Coombs directo positivo sin existir incompatibilidad ABO con la madre. La correlación de estos resultados lleva a la investigación e identificación de un Anti-M en el suero materno. Fue posible realizar un diagnóstico definitivo gracias a la discrepancia en la hemoclasificación de la sangre materna, a pesar de que los anticuerpos Anti-M usualmente no juegan un papel importante en las EHFRN, este caso resalta la importancia de identificar la presencia de diferentes anticuerpos que pueden ser de vital importancia a la hora de prevenir desenlaces graves asociados a EHFRN, abriendo puertas a nuevas recomendaciones relacionadas con la tamización y tratamiento temprano de la hemólisis en los recién nacidos.

Palabras clave: eritroblastosis fetal; incompatibilidad de grupos sanguíneos; prueba de Coombs; ictericia neonatal; hiperbilirrubinemia neonatal; antígenos de grupos sanguíneos.

There are few reports of hemolytic disease of the fetus and the new-born (HDFN) caused by alloantibodies against MNS blood group system, this is because antibodies towards these antigens usually are IgM, which not only are unable to cross the placental circulation, but also react at temperatures below 37°C, having minimal clinical importance. Despite this fact, cases have been reported where the presence of anti-M IgG antibodies caused severe HDFN and even intrauterine death in the presence of maternal-fetal MNS incompatibility, which could have a high clinical impact. The hemolytic pattern observed in these cases is similar to that caused by anti-Kell antibodies. Progressive anemia is mediated and developed through hematopoietic suppression, inducing destruction of bone marrow precursor cells, with the resulting absence of reticulocytes in peripheral blood. This is the case of a woman at 38.5 weeks of gestation who showed a discrepancy between direct and reverse blood type determinations. Blood tests performed to the new-born resulted in a positive direct Coombs test, without the existence of maternal-fetal ABO incompatibility. Further tests were performed and anti-M antibodies in maternal serum screening were found. In this case, we were able to make the final diagnosis mostly due to discrepancy issues in maternal blood. Although anti-M antibodies do not usually play a major role in most HDFN, this case elucidates the importance of identifying the presence of antibodies that can be of crucial importance for preventing HDFN, opening doors to new recommendations regarding screening and prompt treatment of hemolysis in new-borns.

Key words: Erythroblastosis, fetal; blood group incompatibility; Coombs test; jaundice, neonatal; hyperbilirubinemia, neonatal; blood group antigens.

El sistema sanguíneo MNS, a excepción del antígeno S o s, es considerado clínicamente significativo en medicina transfusional dada su naturaleza de generar anticuerpos IgM y el riesgo potencial de causar reacción hemolítica post transfusional. La incidencia del Antígeno M es del 75% en la población mundial, y la incidencia de anti-M como Aloanticuerpo (Alo-Ac) en donantes es 1 en 2500 individuos (1-3). Los aloanticuerpos del sistema MNS que ocurren de forma natural fueron descritos por Wolff y Johnsson en 1933 (4), estos anticuerpos parecen tener mayor prevalencia en infantes que en adultos siendo producto de reacción cruzada tras la exposición poblacional a virus y bacterias, y son anticuerpos tipo IgM sin significado clínico. La presencia de Anti-M IgM ha sido reportada con mayor frecuencia en la literatura que los anticuerpos tipo IgG, y se reportan en casos como causantes de discrepancias en la hemoclasificación inversa, al presentar reactividad a temperaturas $<37^{\circ}\text{C}$, que resuelven al ser incubada la reacción a 37°C (5).

Los anticuerpos anti-M se identifican en el 9-10% de las gestantes con rastreo de anticuerpos irregulares (RAI) positivo. Típicamente son IgM por lo que no tienen la capacidad de atravesar la barrera placentaria (6), pero existen casos reportados en la literatura de Anti-M causantes de enfermedad hemolítica del feto y el recién nacido (EHFRN). Entre los anticuerpos hacia antígenos no-RH causantes de la EHFRN, los anticuerpos Anti-M representan una frecuencia muy baja, agrupándose con anticuerpos hacia grupos sanguíneos como Lewis, Duffy, e incluso aquellos con reacción inespecífica, de los cuales se reportan prevalencias incluso de $<5\%$ en casos de aloinmunización (7). En un reporte realizado en la India por Suresh, et. al. En donde se realizó un cribado a 2060 maternas, se

documentaron 22 casos de aloinmunización materna con RAI positivo, de los cuales solamente 1 correspondía a aloinmunización causada por Anti-M, representando solamente el 4.5% de las maternas aloinmunizadas. Las características del Alo Ac Anti-M con significado clínico asociadas a EHFRN son reactivos únicamente a 37°C, siendo anticuerpos de isotipo IgG o IgM de amplio espectro térmico, que pueden causar afectación fetal con diferentes grados de severidad.

Existen contados reportes de Anti-M como causante de EHFRN, presentándose con anemia de aparición tardía y severidad progresiva con un Coombs directo negativo o débilmente positivo al nacimiento. Se han descrito casos de hiperbilirrubinemia de severidad variable, cuadros de muerte intrauterina a repetición, e incluso anemia neonatal severa. La EHFRN causada por Anti-M, esta mediada por la destrucción de precursores eritropoyéticos la cual ocurre en mayor medida que en los glóbulos rojos maduros, dado a su mayor expresión de los antígenos MNS en su superficie. Esta hemólisis es causante de los cuadros que cursan con hiperbilirrubinemia, y así mismo genera la reducción de reticulocitos en periferia, lo cual compromete la capacidad de reconstitución medular para la reposición de la población eritrocitaria (6,8).

Descripción del caso

Se presenta el caso de una materna de 30 años, primigestante, la cual ingresó con 38,5 semanas de gestación por ecografía, sin antecedentes ginecobstétricos previos, y gestación producto de fertilización in vitro. La paciente ingresó para cesárea programada por desproporción cefalopélvica (peso estimado fetal en último control de 3800g). Antecedentes patológicos: Diabetes gestacional desde la

semana 20, manejada con dieta y ejercicio. Niega transfusiones previas.

Hemoclasificación del padre: "O" Rh D positivo.

En el servicio transfusional, se procesó muestra materna para hemoclasificación como protocolo ginecobstétrico (figura 1), teniendo como resultado la discrepancia entre la prueba globular y la sérica.

Tal como se observa en el cuadro 1 y figura 2, mientras que la hemoclasificación directa e inversa a 4°C muestra simultáneamente la presencia de antígenos A y B en los eritrocitos maternos con actividad anti-A y anti-B en el suero materno, al repetirse la prueba a 37°C la discrepancia desaparece al desaparecer la actividad de anticuerpos anti-A y anti-B.

Luego de cesárea, nace recién nacido femenino de 3485 gr, APGAR 8/9/10, líquido amniótico claro por cesárea sin alteraciones. Recién nacido con diagnóstico de nacimiento a término, con peso adecuado y adaptación neonatal espontánea. La hemoclasificación en sangre de cordón umbilical fue: Grupo Sanguíneo "A" Rh D Positivo con Coombs Directo positivo 1 + (figura 3).

Correlacionando este último resultado con la discrepancia inicial de la hemoclasificación materna, y en ausencia de incompatibilidad ABO entre madre y recién nacido, se decide realizar rastreo de anticuerpos irregulares (RAI) a la muestra materna obteniendo como resultado RAI Positivo, Células I: positivo weak, Células II: 1+ (figura 4). La muestra materna fue remitida a Unidad Transfusional de referencia para la identificación del anticuerpo irregular donde se identifica un aloanticuerpo (Alo-Ac) anti-M.

Posteriormente, se decidió realizar a la muestra del recién nacido fenotipo para el Antígeno M del grupo sanguíneo MNS, con el fin de confirmar o descartar que la

sensibilización observada en el Coombs directo positivo del recién nacido se deba a presencia de anticuerpo anti-M identificado en la muestra materna.

Además, se hace el fenotipo de la madre para confirmar que es antígeno M del sistema MNS, negativo (figuras 5 y 6). El resultado en la unidad transfusional de referencia confirmó las dos premisas.

Con este hallazgo, se informa a la unidad de neonatos para que hagan seguimiento por riesgo de hemólisis. En dicha unidad, por evolución satisfactoria, se tenía programada salida del neonato, pero con la notificación de los resultados del laboratorio, se decide dejar en observación. En la conducta clínica se decidió tomar paraclínicos: Hb: 16.7 g/dL, HCTO: 48.4%, leucocitos: $21.3 \times 10^3/\mu\text{L}$, neutrófilos: 68.5%, linfocitos: 19.3%, plaquetas: $349.00 \times 10^3/\mu\text{L}$. Glucosa: 56 mg/dL. Bilirrubina total: 3.5 mg/dL, directa: 0.25 mg/dL, indirecta: 3.25 mg/dL, definida como sin criterio de intervención. A las 21 horas del nacimiento con glucometrías normales, succión adecuada, buen tono muscular, sin dificultad respiratoria y bilirrubinas (bilicheck) de 5.3 – 5.7 mg/dL fuera del nivel de intervención, se da salida a la recién nacida, quien evolucionó satisfactoriamente. Se empleó tecnología en columna de Micropartículas (BioRad®), para la lectura de los pozos se utilizó un sistema automatizado IH-500 de Biocientífica.

Consideraciones éticas

La publicación del caso fue revisada y aprobada por el Comité Corporativo de Ética en Investigación de la Fundación Santa Fe de Bogotá (#CCEI-10817-2019).

Discusión

Los antígenos del sistema MNS se encuentran expresados en la membrana eritrocitaria en las estructuras denominadas como glicoforina A (GPA), glicoforina

B (GPB) y glicoforinas híbridas producto de recombinaciones genéticas de estos genes, las últimas siendo de mayor prevalencia en raza asiática y casi inexistente en raza blanca. Las glicoforinas son glicoproteínas de paso único por la membrana, compuestas principalmente de ácido siálico y con gran número de puntos de glicosilación; este tipo de estructuras genera la naturaleza electronegativa de la superficie del eritrocito. Las glicoforinas interactúan con otras estructuras como la banda 3, proteínas del sistema Rh, acuaporinas, transportadores de glucosa tipo I y espectrina, formando complejos que regulan el intercambio gaseoso y la estabilidad osmótica de la membrana eritrocitaria. La expresión de los genes GPA y GPB aparece desde momentos tempranos de la hematopoyesis y representa uno de los primeros marcadores de linaje de compromiso eritroide (2).

Los antígenos expresados en glicoforinas híbridas, presentan la característica de generar aloinmunización mediada por IgG, a diferencia de los fenotipos de mayor prevalencia en raza blanca (M y N), los cuales, tras eventos transfusionales o gestacionales, generan de forma típica aloinmunización de naturaleza IgM. A pesar de lo anterior anticuerpos Anti-M y Anti-N han sido identificados como causantes de reacciones hemolíticas postransfusionales (5,9,10) y anemia del recién nacido, esta última, con graves desenlaces en el producto de la gestación. (6,8,11,12).

La prevalencia de este alo-Ac parece ser baja, y principalmente se resalta que no todos los casos concluyen en EHFRN dada su naturaleza de tipo IgM del anticuerpo formado, la cual es incapaz de atravesar la barrera feto-placentaria. Sin embargo, la preocupación aparece ante aquellos casos, en donde circunstancias

como transfusiones o gestaciones, generan aloinmunización con Anti-M tipo IgG.

Los casos clínicos de EHFRN reportados en la literatura causados por Anti-M, tienen como característica el ser capaces de causar una gran variabilidad de cuadros clínicos, presentándose, por ejemplo, como maternas con grandes historiales de abortos a repetición en gestaciones superiores a las 20 semanas (6,12), como una afectación neonatal con cuadros de anemia progresiva e hiperbilirrubinemia (6), e incluso, como neonatos sin afectación evidente con Coombs directo débilmente positivo y sin desarrollo de anemia.(1)

El caso presentado fue identificado tras la investigación de una discrepancia en la hemoclasificación de la sangre materna, la cual resolvió al realizar incubación a 37°C, dando cuenta de un anticuerpo de naturaleza fría-IgM que causaba aglutinación con las células A1 y células B de la hemoclasificación inversa sin tratarse de una reacción mediada por anticuerpos hacia los antígenos del sistema ABO. El Coombs directo positivo en el recién nacido hace ampliar la investigación hacia este anticuerpo causante de la discrepancia, dada la ausencia de incompatibilidad ABO ni Rh entre la madre y su hijo (madre AB Rh D positivo, hijo A Rh D positivo) que pudiera causar este resultado. El rastreo y posterior identificación de anticuerpos irregulares en el suero materno permitieron identificar la presencia de Anti-M, el cual se asoció como causante de la sensibilización in vivo de los eritrocitos del recién nacido al ser el neonato fenotipo Antígeno M positivo. Adicionalmente, se estableció que el anti-M descrito incluía ambas subclases de inmunoglobulinas, la IgM, causante principal de la discrepancia en la hemoclasificación materna dado el rango térmico en que se encontraba, y la IgG, capaz de atravesar la barrera feto-placentaria causal de la hemólisis en el recién

nacido. Al ser dilucidado el caso, el servicio de neonatología fue informado de la posibilidad de presentación de hemólisis y anemia del recién nacido, por lo cual se realizó un seguimiento clínico y paraclínico, evidenciando únicamente un aumento en los valores de bilirrubinas que, no llegaron a encontrarse en rangos de intervención.

Conclusiones y recomendaciones

La EHFRN tiene incidencia alta en incompatibilidades antigénicas del grupo Rh, entre madre y feto, con consecuencias graves en la mayoría de los casos.

También se ha descrito con otros grupos sanguíneos como el Kell, y en menor frecuencia con el antígeno M del sistema MNS. En este último, la clínica es muy variada, con desenlaces en la mayoría auto limitados sin que medie mucha intervención médica además del seguimiento paraclínico. Sin embargo, algunos casos descritos son más graves, ampliando el espectro del compromiso neonatal.

El caso presentado evolucionó de forma benigna y fue diagnosticado principalmente por discrepancias en la hemoclasificación de la madre, así como un Coombs positivo en el recién nacido a pesar de no tener una incompatibilidad evidente de grupo o Rh. Esta circunstancia abre las puertas para la evaluación de nuevas recomendaciones con respecto a la importancia del estudio de los anticuerpos irregulares en el desarrollo de EHFRN, la cual puede representar un riesgo alto para niños recién nacidos a nivel mundial. Este caso muestra también, que cuando existe una discrepancia de hemoclasificación entre la prueba directa e indirecta, la causa puede ser una incompatibilidad que debe ser estudiada para evitar complicaciones derivadas de ésta. Una prueba valiosa adicional, la cual no se realizó en este caso, es la identificación de anticuerpos en el eluado de la

muestra del recién nacido, constatando así la identificación del anticuerpo sobre la superficie del eritrocito.

Conflictos de interés

No hay conflictos de interés.

Financiación

Este manuscrito no recibió ningún tipo de financiación.

Referencias

1. **Philip J, Kushwaha N, Jain N.** Report of two cases of anti-M antibody in antenatal patients. *Asian J Transfus Sci.* 2015;9:89-91.
<https://doi.org/10.4103/0973-6247.150963>
2. **Heathcote DJ, Carroll TE, Flower RL.** Sixty years of antibodies to MNS system hybrid glycoproteins: what have we learned? *Transfus Med Rev.* 2011;25:111-24. <https://doi.org/10.1016/j.tmr.2010.11.003>
3. **Gandhi MJ, Strong DM, Whitaker BI, Petrisli E.** A brief overview of clinical significance of blood group antibodies. *Immunohematology.* 2019;34:4-6.
4. **Wolff E, Jonsson B.** Studien über die untergruppen A1 und A2 mitesonderer berücksichtigung der paternitätsuntersuchungen. *Dtsch Ztschr Gerichtl Med.* 1933;22:65-85.
5. **Khalid S, Dantes R, Varghese S, Al Hakawati I.** Naturally occurring anti M complicating ABO grouping. *Indian J Pathol Microbiol.* 2011;54:170-2.
<https://doi.org/10.4103/0377-4929.77394>
6. **Ugarte Rubio L, Cestafe M, Lete I, Lapuente Ocamica O, Gonzalez Calviño J.** Enfermedad hemolítica perinatal causada por anticuerpos anti-M y

tratada con inmunoglobulinas intravenosas fetales. Prog Obstet Ginecol.

2015;58:327-29. <https://doi.org/10.1016/j.pog.2015.02.012>

7. **Suresh B, Sreedhar KV, Reji A, Jothibai DS.** Prevalence of “unexpected antibodies” in the antenatal women attending the Government Maternity Hospital, Tirupati. J Clin Sci Res. 2015;4:22-30. <https://doi.org/10.15380/2277-5706.JCSR.14.041>

8. **Yasuda H, Ohto H, Nollet KE, Kawabata K, Saito S, Yagi Y, et al.** Hemolytic disease of the fetus and newborn with late-onset anemia due to anti-M: a case report and review of the Japanese literature. Transfus Med Rev. 2014;28:1-6. <https://doi.org/10.1016/j.tmr.2013.10.002>

9. **Tondon R, Kataria R, Chaudhry R.** Anti-M: Report of two cases and review of literature. Asian J Transfus Sci. 2008;2:81-3. <https://doi.org/10.4103/0973-6247.42695>

10. **Kaur G, Basu S, Kaur P, Kaur R.** Clinically significant anti M antibodies--a report of two cases. Transfus Apher Sci. 2012;47:259-61. <https://doi.org/10.1016/j.transci.2012.07.023>

11. **Duro EA, Desalvo L, Kuret S.** Severe hemolytic disease of the newborn caused by anti-m antibodies. Iran J Pediatr. 2013;23:607-8.

12. **Ishida A, Ohto H, Yasuda H, Negishi Y, Tsuiki H, Arakawa T, et al.** Anti-M antibody induced prolonged anemia following hemolytic disease of the newborn due to erythropoietic suppression in 2 siblings. J Pediatr Hematol Oncol. 2015;37:e375-7. <https://doi.org/10.1097/MPH.0000000000000341>

Cuadro 1 La hemoclasificación manual realizada a 37 grados Centígrados (Figura 2) resuelve la discrepancia, concluyendo que el grupo sanguíneo de la materna es “AB” Rh D Positivo.

20°C (Temperatura ambiente)	4°C	37°C
Hemoclasificación directa: Anti-A: 4+ Anti-B: 4+ Anti-D (VI-): 4+ Control: Negativo Hemoclasificación inversa: Células A1: 2+ Células B: 2+	Hemoclasificación directa: Anti-A: 4+ Anti-B: 4+ Anti-D (VI-): 4+ Control: Negativo Hemoclasificación inversa: Células A1: 2+ Células B: 2+	Hemoclasificación directa: Anti-A: 4+ Anti-B: 4+ Anti-D (VI-): 4+ Control: Negativo Hemoclasificación inversa: Células A1: Negativo Células B: Negativo

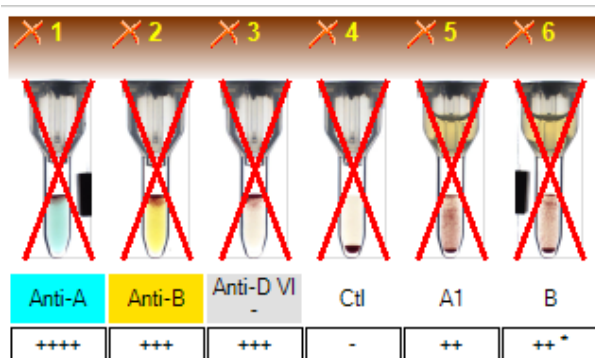


Figura 1 Hemoclasificación automatizada rechazada por el software debido a discrepancia presente, lo que explica la X roja en cada pozo. En la prueba globular o directa (pozos 1, 2, 3 y 4) el grupo claramente es AB. Sin embargo, en la prueba sérica o inversa (pozos 5 y 6) se identifican anticuerpos anti A y anti B.

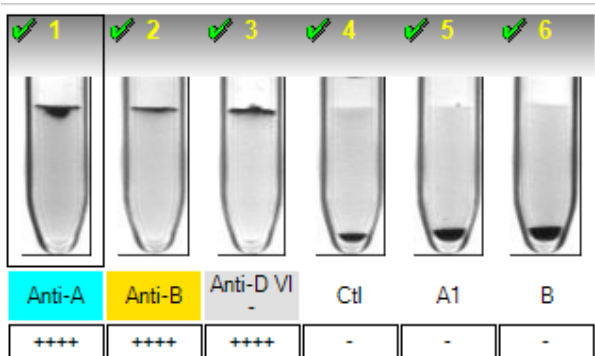


Figura 2 Hemoclasificación manual a 37 grados centígrados. Prueba globular o directa (Pozos 1,2, 3 y 4) confirma presencia de antígeno A y B sobre el eritrocito, y la prueba sérica o inversa (Pozos 5 y 6) confirma la ausencia de anticuerpos anti A y anti B vistos en los montajes a temperatura ambiente y a 4 grados.

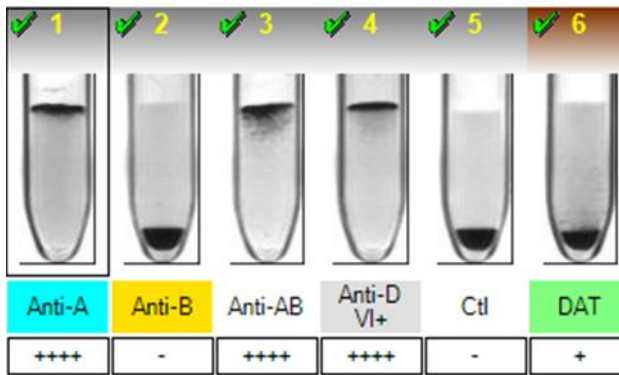


Figura 3 Hemoclasificación del recién nacido. Grupo sanguíneo A Rh D positivo. En el pozo 6 se observa la prueba de Coombs con el resultado positivo de 1 +.

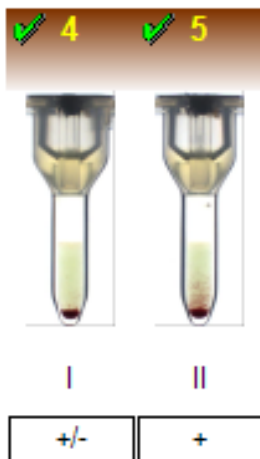


Figura 4 Rastreo de anticuerpos irregulares de la muestra materna. Las dos células son positivas, lo que hace sospechar que la discrepancia se debe a un aloanticuerpo, confirmado posteriormente como un anti M.

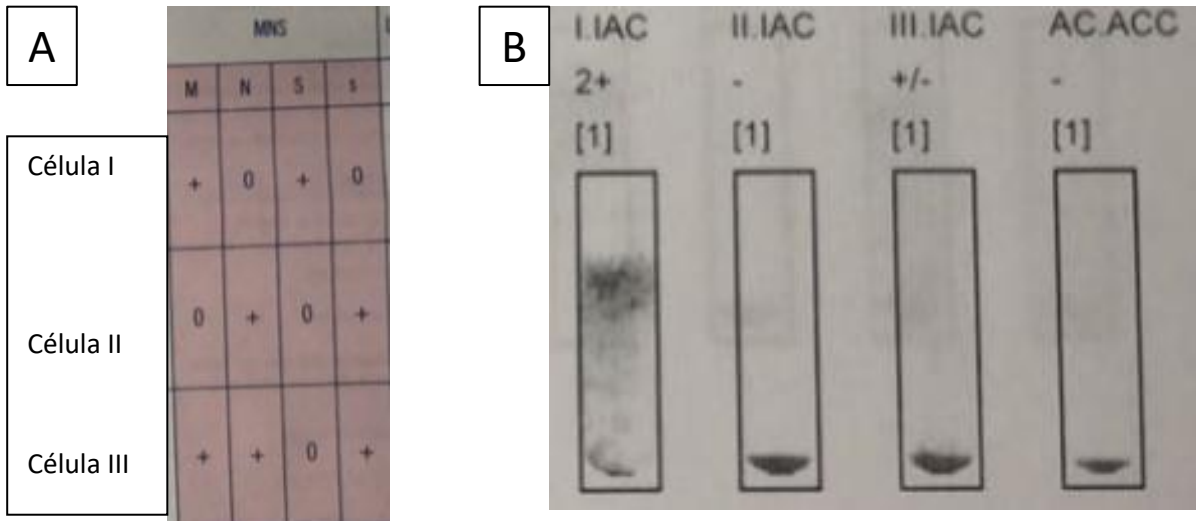


Figura 5 A: Panel células de rastreo: fenotipo grupo MNS. Respectivo al antígeno M, la tabla demuestra la expresión de este antígeno en las células I y III. B: Rastreo de anticuerpos irregulares y autocontrol muestra materna: resultados positivos células I y III, La reactividad con estas dos células es consistente con la presencia de un anticuerpo de especificidad anti-M en el suero materno.

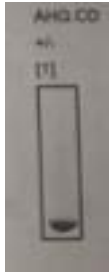


Figura 6 Fenotipo para antígeno M del sistema MNS. Se confirma presencia del antígeno M sobre la superficie del glóbulo rojo del recién nacido.